

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 70%

Daun Karamunting(*Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus

Ni'matul Muthmainnah¹, Heru Fajar Trianto², Pandu Indra Bangsawan³

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

² Departemen Pre Klinik Histologi Medik, Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

³ Departemen Farmakologi, Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. Daun karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) telah banyak digunakan dimasyarakat sebagai obat tradisional untuk pengobatan penyakit kolik, diare, disentri, abses, perdarahan, sakit perut, penetral racun dan luka. Penggunaan daun karamunting dosis tinggi diketahui dapat merusak ginjal secara mikroskopik. **Metodologi.** Desain penelitian ini merupakan *true experimental* bentuk *Post test - Only Control Design*. Penelitian ini menggunakan 25 tikus dan dibagi 5 kelompok. Semua perlakuan dilakukn selama 10 hari. Tikus kemudian dibedah pada hari ke-11, diambil ginjal kanan dan dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan H&E. Data dianalisa menggunakan *One Way ANOVA*, dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Test*. **Hasil.** Terdapat perbedaan bermakna rerata luas kerusakan pada kelompok perlakuan 1 dan 2 dengan kelompok kontrol positif ($p=0,00$), tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan 3 dengan kelompok kontrol positif ($p=0,372$). **Kesimpulan.** Semakin tinggi pemberian dosis ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) maka semakin luas kerusakan yang terjadi pada ginjal tikus.

Kata kunci: toksisitas akut, *Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.

Background. *Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. leaves have been used among community as traditional medication for colic disease, diarrhea, dysentery, abscess, bleeding, abdominal pain, antidote, and wound. Oral administration of *Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. leaves in high dosage is considered to damage kidney microscopically. **Method.** This study was a *true experimental* study with *Post test - Only Control Design*. This study used 25 rats and divided in 5 groups.. All treatments were conducted in 10 days. Rats were dissected in eleventh day. Right kidneys of each rat were taken and histopathological specimens were stained by H&E.. Data were analyzed by *One Way ANOVA* test with SPSS 16.0 software. **Result.** Kidney damage area in treatment groups 1 and 2 were different significantly with positive control groups ($p= 0,000$), but there was no difference between treatment group 3 and positive control group ($p=0,372$). **Conclusion.** Dosage of *Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. leaves ethanol extract and kidney damage area were linear.

Keyword: *Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk, acute toxicity.

LATAR BELAKANG

Daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) merupakan salah satu dari 1000 tanaman yang ada di Indonesia yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Masyarakat banyak menggunakan daun karamunting untuk mengobati penyakit kolik, diare, disentri, abses, perdarahan, sakit perut, penetral racun dan luka.^{1,2} Daun karamunting juga sudah terbukti memiliki efek sebagai hepatoprotektor, antioksidan, antibakterial dan dapat mengurangi ulkus pada lambung.³⁻⁵

Penggunaan obat tradisional dimasyarakat sebagai upaya menyembuhkan penyakit sangat tinggi. Data dari Departemen Kesehatan tahun 2010 melaporkan sebanyak 59,12% penduduk Indonesia pernah mengkonsumsi

obat tradisional, dan 95,60% diantaranya mengatakan bahwa mengkonsumsi obat tradisional bermanfaat bagi tubuh.⁶ Namun, laporan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan pada tahun 2012 terdapat 41 kasus keracunan akibat penggunaan obat tradisional.⁷ Selain itu data dari WHO tahun 2005 melaporkan adanya kasus kerusakan ginjal akibat penggunaan obat tradisional. Tanaman yang dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal yaitu *Aristolochiaceae*, *Callilepis laureola*, *Uncaria tomentosa*, *Pithecellobium labatum* dan salah satunya karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*).⁸⁻⁹ Penelitian mengenai daun karamunting yang dilakukan oleh Hidayati pada tahun 2011 mengatakan bahwa penggunaan daun karamunting dapat menyebabkan kerusakan ginjal secara mikroskopik

pada dosis 40 mg/kgBB pada mencit putih.¹⁰

Tingkat kerusakan yang disebabkan oleh penggunaan obat tradisional dapat dinilai dengan uji toksisitas. Toksisitas merupakan kemampuan zat kimia dalam menimbulkan kerusakan pada organisme baik saat digunakan atau saat berada di lingkungan. Uji toksisitas terdiri dari uji toksisitas akut, uji toksisitas subakut dan uji toksisitas kronik. Uji toksisitas yang pertama kali dilakukan adalah toksisitas akut. Toksisitas akut melibatkan efek berbahaya pada suatu organisme melalui paparan jangka pendek. Dalam pengukuran toksisitas akut umumnya menggunakan parameter pengukuran *Lethal Doses 50* (LD₅₀) dan gambaran histopatologi organ. LD₅₀ merupakan dosis tunggal suatu zat

yang secara statistik diperkirakan akan membunuh 50% hewan percobaan.¹¹⁻¹⁴

Dikarenakan banyaknya masyarakat yang menggunakan daun karamunting untuk mengobati berbagai penyakit serta terjadinya kerusakan ginjal secara mikroskopik akibat penggunaan daun karamunting, maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis toksik dari ekstrak etanol 70% daun karamunting dengan parameter LD₅₀ dan gambaran histopatologi ginjal.

METODE

Bahan

1. Alat yang digunakan adalah:

Instrumen yang digunakan adalah kandang tikus, timbangan hewan, timbangan obat, blender, tabung maserasi, batang

pengaduk, shaker, corong kaca, erlenmeyer, gelas beker, *vacuum rotary evaporator*, waterbath, *hot plate*, alat bedah hewan coba, pipet hematokrit, sonde lambung, mikrotom, *staining jar*, mikroskop cahaya, piranti komputer AxioVisio Rel 4.8.

2. Bahan yang digunakan adalah:

Bahan yang digunakan adalah hewan coba (tikus putih jantan galur wistar), makanan hewan coba, *aquadest*, CMC (*Carboxymethylcellulose*), daun karamunting, etanol 70%, gentamisin, Formalin buffer 10%, Alkohol 70%, 80%, 90%, 95 % dan alkohol absolut, Larutan xylol, Parafin cair (histoplast), Hematoxylin-Eosin, dan kloroform.

Hewan Uji

Tikus yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar yang diambil sebanyak 25 ekor dengan umur 8-16 minggu dengan berat 150-300 gr. Pemilihan tikus sehat dengan menggunakan kriteria aktivitas fisik biasa dan tidak memiliki cacat secara anatomi. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok. Pemberian makanan adalah pakan standar dan minum *ad libitum*.

Prosedur Penelitian

Sebelum penelitian, sebanyak 25 tikus diaklimasi selama 7 hari dengan pemberian makanan standar dan minum secara *ad libitum* serta dipelihara di dalam kandang yang memadai. Selama aklimasi dilakukan pemantauan berat badan serta sikap dan tingkah laku. Tikus kemudian dibagi ke dalam 5 kelompok. Kelompok kontrol positif diberikan

perlakuan injeksi intraperitoneal gentamisin 80mg/kgBB, kelompok kontrol negatif diberikan perlakuan pemberian CMC peroral, kelompok perlakuan 1 diberikan perlakuan pemberian ekstrak daun karamunting 600mg/kgBB peroral, kelompok perlakuan 2 diberikan perlakuan pemberian ekstrak daun karamunting 1200mg/kgBB peroral, dan kelompok perlakuan 3 diberikan perlakuan pemberian ekstrak daun karamunting 2400mg/kgBB peroral. Perlakuan dilakukan selama 10 hari.

Setelah 10 hari, hewan coba akan diterminasi dengan cara diberikan kloroform secara inhalan di dalam tabung transparan tertutup kemudian setelah dipastikan mati, hewan uji dibedah untuk diambil ginjal sebelah kanannya dan dibuat preparat histopatologi. Pembacaan luas kerusakan ginjal dilakukan

dengan mikroskop cahaya perbesaran lensa objektif 4x dan dihitung luasnya dengan aplikasi AxioVision Rel.4.8. Hasil luas kerusakan masing-masing kelompok kemudian dianalisis secara statistik menggunakan program *SPSS 16* dengan menggunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan *Post Hoc Test LSD*

HASIL

Kandungan metabolit sekunder

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% daun karamunting menunjukkan adanya kandungan fenol, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid.

Gambaran kerusakan ginjal

Kelompok kontrol negatif yang mendapatkan perlakuan CMC peroral tampak gambaran glomerulus normal

dan tubulus normal. Kelompok kontrol positif yang mendapatkan perlakuan injeksi intraperitoneal gentamisin tampak gambaran glomerulus yang masih normal tetapi tampak terjadi kerusakan pada tubulus dan perdarahan interstitial

Kelompok perlakuan 1 mendapatkan perlakuan ekstrak daun karamunting 600mg/kgBB peroral tampak gambaran glomerulus yang masih normal, tubulus normal, tetapi sudah terjadi perdarahan interstitial yang minimal. Kelompok perlakuan 2 mendapatkan perlakuan ekstrak daun karamunting 1200mg/kgBB peroral tampak gambaran glomerulus yang masih normal tetapi tampak terjadi perdarahan interstitial. Kelompok perlakuan 3 mendapatkan perlakuan ekstrak daun karamunting 2400mg/kgBB peroral tampak adanya kerusakan glomerulus, adanya debris

intraluminal dan perdarahan interstitial.

Pengamatan dilakukan dengan perbesaran objektif 40x dan pewarnaan H&E.

Rerata luas kerusakan ginjal

Setelah perlakuan selama 10 hari didapatkan perbedaan bermakna rerata luas kerusakan pada kelompok kontrol positif dengan rerata luas kerusakan kelompok kontrol negatif ($p=0.000$).

Kelompok perlakuan 1 memiliki rerata luas kerusakan lebih luas dibandingkan kelompok kontrol negatif dengan perbedaan yang bermakna antara 2 kelompok ($p=0,043$) dan memiliki rerata luas kerusakan lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol positif dengan perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p=0,000$).

Kelompok perlakuan 2 memiliki rerata luas kerusakan lebih luas

dibandingkan kelompok kontrol negatif dengan perbedaan yang bermakna antara 2 kelompok ($p=0,005$) dan memiliki rerata luas kerusakan lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol positif dengan perbedaan yang bermakna antar kelompok 2 kelompok ($p=0,000$).

Kelompok perlakuan 3 memiliki rerata luas kerusakan yang lebih luas dibandingkan kelompok kontrol negatif dengan perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p=0,000$). Tetapi memiliki perbedaan rerata luas kerusakan yang tidak bermakna secara statistik ($p=0,372$) dengan kelompok kontrol positif.

PEMBAHASAN

Kerusakan ginjal yang tampak pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomirtus*

tomentosa (Aiton) Hassk) berupa kolapsnya glomerulus, penyempitan lumen tubulus, rusaknya epitel tubulus, terbentuknya cast di dalam lumen, penumpukan debris di lumen tubulus, perdarahan interstitial dan adanya sebum sel radang. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Al-Munawar *et al* (2009) yang menyatakan pemberian ekstrak valerian (*Valerian officinalis*) dapat menyebabkan kerusakan tubulus berupa penyempitan lumen tubulus.¹⁵ Penelitian yang dilakukan Shafaei H *et al* (2012) juga menyatakan pemberian ekstrak *Citrullus colocynthis* yang mengandung saponin dapat menyebabkan kerusakan ginjal berupa hilangnya *brushborder* dari tubulus proksimal, perdarahan glomerulus dan perdarahan pada korteks ginjal.¹⁶

Kerusakan ginjal yang terjadi pada pemberian ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) sedikit berbeda dengan kerusakan yang diakibatkan oleh pemberian injeksi intraperitoneal gentamisin. Kerusakan ginjal yang diakibatkan oleh pemberian gentamisin berupa pembentukan cast tubulus, kerusakan dari epitel tubulus, perdarahan interstitial dan sekukan sel radang. Kerusakan pada tubulus ginjal lebih dominan daripada kerusakan glomerulus, hal ini diakibatkan gentamisin yang terfiltrasi glomerulus, akan masuk ke tubulus proksimal, dan akhirnya berakumulasi didalam sel tubulus. Akumulasi dalam sel tubulus ini yang menyebabkan kerusakan dari sel tubulus itu sendiri.¹⁷ Penelitian oleh Shalaby *et al* (2014)

menyatakan injeksi intraperitoneal gentamisin mengakibatkan tubular nekrosis yang diakibatkan akumulasi gentamisin di dalam tubulus kontortus ginjal dan lisosom yang memicu kerusakan sel.¹⁸

Daun karamunting memiliki kandungan metabolit sekunder fenol, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Fenol, flavonoid, tanin, steroid dan triterpenoid diketahui memiliki efek sebagai antioksidan. Flavonoid memiliki efek sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya. Selain itu flavonoid juga dapat mengurangi pembentukan radikal bebas dan dapat pula mengikat radikal bebas yang terbentuk.¹⁹ Efek flavonoid sebagai antioksidan sesuai dengan penelitian oleh Pietta PG (2000) yang menyatakan bahwa terjadi peningkatan kadar antioksidan

didalam plasma setelah penambahan senyawa flavonoid.²⁰ Penelitian oleh Asgary N et al (2005) menyatakan bahwa flavonoid juga dapat mencegah terjadinya hemolisis dari sel darah merah yang disebabkan oleh radikal bebas.²¹ Tanin memiliki efek sebagai antioksidan terhadap adanya stress oksidatif. Tanin dapat menghambat aktivitas dari radikal superoksida, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chung KT *et al* (1998).²²

Fenol dan triterpenoid juga merupakan senyawa antioksidan. Senyawa fenol dapat memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas. Senyawa fenol akan memberikan atom hidrogen sehingga terbentuk senyawa yang stabil.²³ Hal ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Tommy (2013) yang menyatakan senyawa fenol dan triterpenoid memiliki efek

sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas.²⁴ Tetapi, senyawa fenol apabila diberikan dalam dosis yang cukup tinggi dapat bertindak sebagai senyawa sitotoksik.²⁵

Steroid dan triterpenoid juga diketahui memiliki efek sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Cui Y *et al* (2005) menyatakan metabolit sekunder steroid dan triterpenoid dapat melawan superoksida dan hidrogen peroksida yang menginduksi stress oksidatif.²⁶

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dicurigai menyebabkan kerusakan pada ginjal akibat pemberian per oral ekstrak daun karamunting. Saponin merupakan metabolit sekunder dari glikosida alami yang secara luas terdistribusi pada tanaman dan juga

ditemukan pada beberapa hewan. Saponin merupakan senyawa yang memiliki sifat biologis yang unik, yaitu kemampuan untuk melisiskan eritrosit dan membentuk busa.²⁷ Menurut penelitian yang dilakukan Bauman E *et al* (2000) dan Gauthier C *et al* (2009), saponin dapat menyebabkan hemolisis dengan mempengaruhi lipid *bilayer* pada membran protein dari sel darah merah sehingga menyebabkan terbentuknya pori pada membran sel darah merah.^{28,29}

Lisisnya sel darah merah menyebabkan terdapatnya hemoglobin bebas dalam plasma. Tetramer hemoglobin bebas bersifat tidak stabil sehingga akan terurai menjadi dimer alfa-beta, yang berikatan dengan haptoglobin dan disingkirkan oleh hati. Penelitian yang dilakukan oleh Chintagari NR

et al (2015) mengatakan hemolisis akan melepaskan hemoglobin bebas yang secara fisiologis nantinya akan berikatan dengan haptoglobin dan membentuk dimer hemoglobin-haptoglobin.³⁰ Tetapi hemolisis sebanyak 1-2 ml sudah dapat menghabiskan haptoglobin plasma. Apabila haptoglobin telah habis terpakai, maka dimer hemoglobin yang tidak terikat akan dieksresikan oleh ginjal sebagai hemoglobin bebas.³¹

Hemoglobin bebas yang terfiltrasi di glomerulus akan menyebabkan kerusakan pada sel epitel tubulus. Hemoglobin bebas juga dapat menginduksi pembentukan cast intratubular, selain itu hemoglobin bebas merupakan inhibitor kuat dari NO yang memicu vasokonstriksi intrarenal dan iskemia.^{12,32}

Penelitian yang dilakukan oleh Gustierrez *et al* (2012) menyatakan bahwa lisisnya sel darah merah dapat melepaskan hemoglobin, heme dan juga iron bebas.³³ Hemoglobin bebas dapat mengakibatkan vasokonstriksi akibat penurunan ketersediaan NO. NO berfungsi untuk mempertahankan homeostasis dari vaskular.³⁴ Vasokonstriksi dari arteriolar glomerulus akan menyebabkan kolapsnya glomerulus dikarenakan glomerulus merupakan perpanjangan dari arteri interlobularis yang memasuki kapsula bowman dan membentuk pleksus kapiler.^{35, 36}

Kerusakan tubulus dapat disebabkan oleh toksik langsung pada sel maupun iskemia.³⁷ Penelitian yang dilakukan oleh Gustierrez *et al* (2012) menyatakan hemoglobin, heme dan iron dapat

menyebabkan kerusakan langsung pada sel tubulus. Adanya hemoglobin, heme dan iron bebas dalam tubulus, menyebabkan kerusakan sel dan kematian sel.³³ Hemoglobin dan iskemia menyebabkan masuknya kalsium ekstrasel melintasi membran plasma, diikuti pelepasan kalsium dari deposit intrasel. Peningkatan kalsium intrasel akan mengaktifasi bermacam fosfolipase (mencetuskan kerusakan membran), protease (mengatabolisasi protein membran dan struktural), ATPase (mempercepat deplesi ATP) sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel tersebut.³⁸

Aktivasi dari protease akibat peningkatan kalsium intrasel menyebabkan hilangnya integritas dari sitoskeleton dari sel tubulus.^{37,38} Hilangnya integritas sitoskeleton

menyebabkan kerusakan dari morfologi sel tersebut. Pada sel tubulus akan menyebabkan hilangnya *brushborder*.³⁷

Pembengkakan sel diakibatkan oleh iskemia sehingga mengganggu aktivitas pompa natrium yang diatur oleh ATP sehingga terjadinya akumulasi natrium intrasel yang menyebabkan pembengkakan sel tubulus.³⁸ Pembengkakan akan menyebabkan lumen tubulus menyempit. Pada kerusakan yang lebih lanjut akan menyebabkan nekrosis dan apoptosis dari sel. Beberapa debris akan dilepaskan ke dalam lumen yang nantinya akan bereaksi dengan protein luminal dan menyebabkan obstruksi. Debris-debris sel tersebut akan beragregasi dalam lumen tubulus dan bereaksi dengan protein fibronectin sehingga menyebabkan terbentuknya cast yang

selanjutnya menyebabkan obstruksi pada tubulus.^{36,37}

Selain akibat hemoglobin toksik langsung ke sel tubulus, kerusakan tubulus juga dapat terjadi akibat gangguan hemodinamik. Penelitian yang dilakukan oleh Breziz M *et al* (1991) mengatakan penurunan ketersediaan nitrit oxide menyebabkan penurunan aliran darah pada ginjal.³⁹ Hemoglobin menyebabkan vasokonstriksi akibat penurunan ketersediaan NO yang apabila terjadi berkepanjangan akan menyebabkan hipoksia pada ginjal dan pada akhirnya menyebabkan kerusakan tubulus akibat kurangnya perfusi ke tubulus.^{12,36}

Hemoglobin dapat menyebabkan kerusakan tubulus yang akan menyebabkan infiltrasi dari sel-sel radang di sekitar tubulus. Infiltrasi dari sel-sel radang yang berasal dari

cedera pada endotel vaskular menyebabkan agregasi dari eritrosit yang menyebabkan perdarahan interstitial.^{12,36} Mekanisme terjadinya perdarahan interstisial juga dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Shafaei H *et al* (2012) kemampuan saponin sebagai membranolitik menyebabkan disintegrasi dari lapisan endotelial kapiler sehingga menyebabkan perdarahan pada ginjal tikus.¹⁶

Iron bebas dapat menyebabkan kerusakan sel dengan membentuk radikal bebas. Iron bebas intrasel sebagian besar dalam bentuk ferri (Fe^{+++}), maka iron harus direduksi terlebih dahulu menjadi bentuk ferro (Fe^{++}) untuk berpartisipasi dalam reaksi fenton. Tahap reduksi dikatalisis oleh ion superoksida sehingga zat besi dan superoksida bersinergi untuk memperoleh cedera

sel oksidatif. Reaksi reduksi Fe^{+++} menjadi Fe^{++} memperbanyak pembentukan OH^{\cdot} .³⁸ Tetapi efek dari radikal bebas yang merusak sel dapat dihambat oleh senyawa metabolit lain seperti flavonoid, tanin, fenol dan triterpenoid yang memiliki efek sebagai antioksidan yang nantinya akan mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif.²⁴

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) mengandung metabolit sekunder fenol, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid.
2. Pemberian dosis 600 mg/kgBB ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) sudah

menyebabkan kerusakan pada ginjal tikus.

3. Semakin tinggi pemberian dosis ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) maka semakin luas kerusakan yang terjadi pada ginjal tikus.
4. LD₅₀ ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) lebih dari 2400 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO). Medicinal plants in vietnam. Hanoi: Institute of Materia Medica. Hal 392, 1989.
2. Kissinger, Zuhud E A M, Darusman LK, Siregar IZ. Keanekaragaman jenis tumbuhan obat dari hutan kerangas. jurnal hutan tropis. 2013, 1(1):4.
3. Lavanya G, Voravuthikunchai SP, Towatana NH. Acetone extract from rhodomyrtus tomentosa: a potent natural antioxidant. hindawi publishing corporation evidence-based complementary and alternative medicine. Volume 2012. Article ID 535479, 2012.
4. Patil V. Evaluation of hepatoprotective and antibacterial activity of aqueous alcoholic (70%) extract of rhodomyrtus tomentosa (aiton) hassk. Rajiv Gandhi University of Health Science. Bangalore (Disertasi), 2011.
5. Geetha KM, Sridhar, Murugan. Antioxidant and gastroprotective activities of rhodomyrtus tomentosa (ait.) hassk. Journal of PharmTech Research. 2010, 2(1): 283-91.
6. Depkes. Riset kesehatan dasar (Riskesdas). Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2010.
7. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM). Grafik kasus keracunan nasional yang terjadi di tahun 2012 berdasarkan kelompok penyebab, 2013. (serial online). Tersedia dari URL: <http://ik.pom.go.id> diakses tanggal 19 Februari 2014 pukul 19:35
8. World Health Organization (WHO). How safe is traditional medicine?, 2005. (serial online). Tersedia dari URL: <http://www.who.int>
9. Singh N P, Prakash A. Nephrotoxic potential of herbal drugs. JIMSA. 2011, 24(2)
10. Hidayati. Efek fraksi air ekstrak etanol daun karamunting (rhodomyrtus tomentosa (ait.) Hassk.) Terhadap histologi hati, ginjal, dan jantung mencit putih. Universitas Andalas. Fakultas Farmasi. Padang. (Skripsi), 2011.
11. Frank CL. Toksikologi dasar. Edisi ke-2. Jakarta: UI Press, 2006.
12. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, et al. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. United States: McGraw-Hill Professional, 2008.
13. Harmita, Radji M. Buku ajar analisis hayati. Edisi 3. Jakarta: EGC, 2008.
14. Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Kumpulan

- Kuliah Farmakologi. Edisi 2. Jakarta: EGC, 2009.
15. Al-Munawar NM. Uji toksisitas akut ekstrak valerian (*Valerian Officinalis*) terhadap ginjal mencit balb/c. Universitas Diponegoro. Fakultas Kedokteran. Semarang. (Skripsi), 2009.
 16. Shafaei H, Esmaeili A, Rad JS, Delazar A, Behjati M. *Citrullus colocynthis* as a medicinal or poisonous plant: a revised fact. *Journal of medicinal plants research*. 2012, 6(35): 4922-7.
 17. Shandu JS, Sehgal A, Gupta O, Singh A. Aminoglycoside nephrotoxicity revisited. *Jurnal Indian Academy of Clinical Medicine*. 2007, 8(4):331-3
 18. Shalaby MA, Hammada AA. Evaluation of nephroprotective and diuretic effects of parsley and turmeric herbs on gentamicin nephrotoxic rats. *World Jurnal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014, 2(12):1729-44.
 19. Cuppett S, Schrepf M, Hall C. (1954). Natural Antioxidant – Are They Reality. Dalam Foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Applications, AOCS Press, Champaign, Illinois, 1954
 20. Pietta, PG. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of natural products*. 2000, 63(7):1035-42
 21. Asgary S, Naderi G, Askari N. Protective effect of flavonoids against red blood cell hemolysis by free radicals. *Experimentan and clinical cardiologi*. 2005, 10(2): 88-90
 22. Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y. Tannins and Human Health: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 1998, 38(6): 421-64
 23. Sestili P, Guidarelli A, Dacha M, Cantoni O. Quercetin prevents DNA single strand breakage and cytotoxicity caused by tertbutylhydroperoxide: Free radical scavenging versus iron chelating mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*. 1998, 25: 196–200.
 24. Tommy. Uji efek renoprotektif fraksi n-heksan daun kesum (*polygonum minus huds.*) Sebagai ko-kemoterapi pada tikus putih jantan galur wistar pasca induksi cisdiamminedichloridoplatinum(II) . *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UNTAN*. 2013, 1(1).
 25. Scapagnini G, Allan DB, Colombrita C, Sultana R, Pascale A, Calabrese V. Ethyl Ferulate, a Lipophilic polyphenol, Induces HO-1 and Protect Rats Neurons Against Oxidative Stress, Antioxidants and redox signaling. 2004, 6:811-18
 26. Cui Y, Kim DS, Park KC. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. *Journal of ethopharmacology*. 2005, 96(1): 79-85.
 27. Francis G, Kerem Z, Makkar HPS et al. The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br J Nutr*. 2002,88:587–605
 28. Gauthier C, Legault J, Girard-Lalancette K et al. Haemolytic activity, cytotoxicity and membrane cell permeabilization of semi-synthetic and natural lupane- and oleanane-type saponins. *Bioorg Med Chem*. 2009, 17:2002–8
 29. Baumann E, Stoya G, Volkner A, Richter W, Lemke C, et al. Hemolysis of human erythrocytes with saponin affects the membrane structure. *Acta histochemia*. 2000, 102(1): 21-35.
 30. Chintagari NR, Nguyen J, Belcher JD, Vercellotti GM, Alayash AI. Haptoglobin attenuates hemoglobin-induced heme oxygenase-1 in renal proximal tubule cells and kidney of a mouse model of sickle cell disease. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. 2015, 54(3): 302-6.
 31. Sacher RA, McPherson RA. Tinjauan klinis hasil pemeriksaan

- laboratorium. Edisi 11. Jakarta: EGC, 2004.
32. O'Callaghan C, Brenner BM. The kidney at a glance. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2000.
 33. Gutierrez E, Egido J, Rubio-Navarro A, Buendia I, Colio LMB, *et al.* Oxidative stress, macrophage infiltration and CD163 expression are determinants of long term renal outcome in macrohematuria-induced acute kidney injury of IgA nephropathy. *Nephron Clin Pract.* 2012, 121:c42-c53.
 34. Cabrales P, Han G, Nacharaju P, Friedman AJ, Friedman JM. Reversal of hemoglobin-induced vasoconstriction with sustained release of nitric oxide. *American journal of physiology*, 2011, 300(1): 49-56
 35. Gartner JP, Hiatt JL. Atlas berwarna histologi. Edisi 5. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2012.
 36. Schrier RW (editor). Atlas of disease of the kidney. Philadelphia: Current Medicine, 1999.
 37. Ronco C, Bellomo R, Kellum JA. Acute kidney injury. Vol 156. Basel: Karger, 2007.
 38. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Buku ajar patologi. Edisi 7. Volume 1. Jakarta: EGC, 2012
 39. Brezis M, Heyman SN, Dinour D, Epstein FH, Rosen S. Role of nitric oxide in renal medullary oxygenation. Studies in isolated and intact rat kidney. *The Journal of Clinical Investigation.* 1991, 88(2): 390-5.